

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 487/04	1 4 0	7019-4C		
A 6 1 K 31/785	A D U	8314-4C		
// A 6 1 K 31/505	A D U	7252-4C		

審査請求 未請求 請求項の数14(全 24 頁)

(21)出願番号	特願平3-331932	(71)出願人	000002934 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(22)出願日	平成3年(1991)12月16日	(72)発明者	秋元 浩 兵庫県神戸市東灘区森北町6丁目4番25号
(31)優先権主張番号	特願平2-402433	(72)発明者	麻生 和義 大阪府大阪市港区港晴2丁目7番1-523号
(32)優先日	平2(1990)12月14日	(72)発明者	大津 紘一郎 大阪府三島郡島本町東大寺3丁目9番26号
(33)優先権主張国	日本 (J P)	(74)代理人	弁理士 岩田 弘 (外5名)
(31)優先権主張番号	特願平3-330367		
(32)優先日	平3(1991)12月13日		
(33)優先権主張国	日本 (J P)		

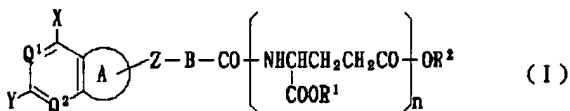
(54)【発明の名称】 縮合複素環オリゴグルタメート、その製造法および用途

(57)【要約】

【目的】細胞内に効率的に貯蔵され、葉酸等を基質とする酵素を阻害する水溶性の抗腫瘍剤として有用な新規化合物を提供する。

【構成】一般式(1)

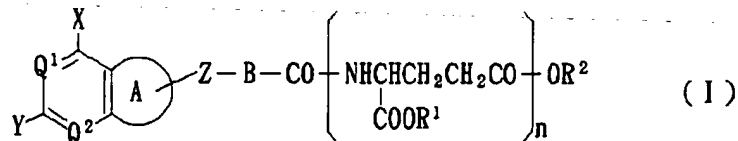
【化1】



〔式中、A環は置換基を有していてもよい5員環、Bは置換基を有していてもよい2価の基、Q¹およびQ²は、一方がN、他方がNまたはCH、Xはアミノ、ヒドロキシまたはメルカプト、YはH、ハロゲンまたはC、N、OもしくはSを介する基、Zは原子数2ないし5の直鎖状の2価の基、COOR¹およびCOOR²はエステル化されていてもよいカルボキシル基、nは2～6の整数を示す。〕で表される化合物またはその塩。

【特許請求の範囲】

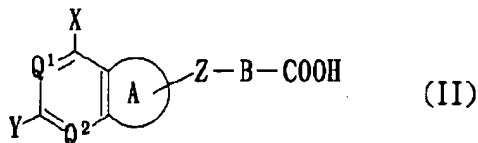
【請求項1】 一般式(I)



〔式中、A環は置換基を有していてもよい5員環を、Bは置換基を有していてもよい2価の環状または鎖状基を、Q¹およびQ²は一方がNを他方がNまたはCHを、Xはアミノ基、ヒドロキシル基またはメルカプト基を、Yは水素原子、ハロゲン原子または炭素、窒素、酸素もしくは硫黄原子を介する基を、Zは置換基を有していてもよい炭素原子または置換基を有していてもよい炭素原子と置換基を有していてもよい1個のヘテロ原子とから構成される原子数2ないし5の直鎖状の2価の基を、COOR¹およびCOOR²は同一または異なってエステル化されていてもよいカルボキシル基を、nは2ないし6の整数を示し、R¹はn個の繰返しにおいてそれぞれ異なってもよい。〕で表される化合物またはその塩。

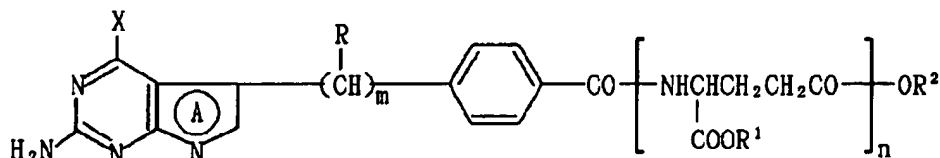
【請求項2】 一般式(II)

【化2】



〔式中の記号は請求項1記載と同意義を示す。〕で表される化合物またはそのカルボキシル基における反応性誘導体と、一般式(III)

【化3】

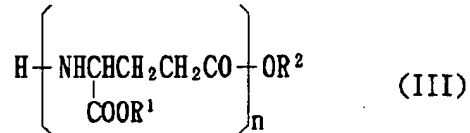


〔式中、A環は水素化されていてもよいピロール環を、Rは水素原子または低級アルキル基を、mは2ないし4の整数を示し、Rはm個の繰返しにおいてそれぞれ異なってもよく、他の記号は請求項1と同意義を示す〕で表される請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項11】 [N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-L-グルタミン酸。

【請求項12】 [N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-γ-

【化1】



〔式中の記号は請求項1記載と同意義を示す。〕で表される化合物とを反応させることを特徴とする請求項1記載の化合物またはその塩の製造法。

【請求項3】 請求項1記載の化合物またはその塩を含有してなる抗腫瘍組成物。

【請求項4】 Zが炭素数2ないし5のアルキレンである請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項5】 nが2または3である請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項6】 Xがヒドロキシル基、Zがジメチレンである請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項7】 Q¹およびQ²がN、XおよびYがアミノ基、Zがトリメチレンである請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項8】 A環がピロールまたはピロリンである請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項9】 Bがフェニル-1,4-イレンである請求項1記載の化合物またはその塩。

【請求項10】 一般式

【化4】

L-グルタミル-L-グルタミン酸。

【請求項13】 [N-[4-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-L-グルタミン酸。

【請求項14】 [N-[4-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-γ-L-グルタミル-L-グルタミン酸。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は抗腫瘍剤として有用な新

規縮合複素環オリゴグルタメート、その製造法および用途に関する。

【0002】

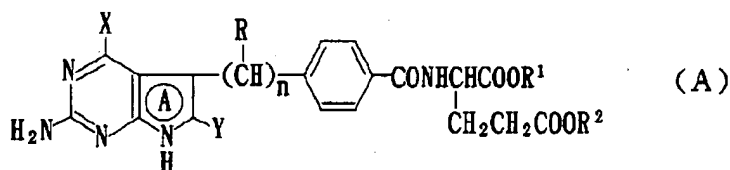
【従来の技術】葉酸およびその関連化合物は、生体内におけるギ酸やホルムアルデヒドなどに由来するC1単位の運搬体として、核酸生合成系、アミノ酸・ペプチド代謝系およびメタン生体系などの各種酵素反応の補酵素の役割を担っている。特に、核酸生合成系、すなわちプリン合成系ならびにチミジン合成系におけるC1単位の代謝・転移反応には必須である。通常、葉酸は2段階還元を受け活性型補酵素であるテトラヒドロ葉酸に変換された後、フォリルポリグルタメート・シンターゼによりグルタミル化されてオリゴグルタメートとして細胞内に効率的に貯蔵される。このテトラヒドロ葉酸およびそのオリゴグルタメートがC1単位を結合した状態で、種々の酵素反応における補酵素として生物活性を発揮している。

【0003】一方、ジヒドロ葉酸からテトラヒドロ葉酸への還元段階を支配する酵素（ジヒドロ葉酸還元酵素）と強く結合し、この還元段階を抑制する薬物としてアメソプテリン（メソトレキサート：MTX）およびその周辺化合物が知られている。これら薬物はDNA合成に障害を与え、結果として細胞死を招来するため、抗腫瘍剤として開発され、臨床で使用されている。さらに、ジヒドロ葉酸還元酵素阻害とは異なる作用機序の葉酸拮抗剤、すなわち、プリン生合成系の初期段階に関与するグリンシナムド・リボヌクレオチド・トランスホルミラー

ゼ阻害を主作用機序とするテトラヒドロアミノプテリン系抗腫瘍剤（5,10-ジデアザー5,6,7,8-テトラヒドロアミノプテリン：DDATHF）[ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリ（Journal of Medicinal Chemistry）28, 194（1985）]あるいは2-デオキシウリジル酸からチミジル酸への変換に関与するチミジル酸シンターゼ阻害を主作用機序とするキナゾリン系抗腫瘍剤（2-デスアミノ-2-メチル-10-プロパルギル-5,8-ジデアザフォーレート：DMPDDF）[ブリティッシュ・ジャーナル・オブ・キャンサー（British Journal of Cancer）58, 241（1988）]などが報告され、さらにそれらのオリゴグルタメート[ジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリ（Journal of Medicinal Chemistry）29, 1754（1986）]及び同31, 181（1988）]も報告されている。しかし、それらのオリゴグルタメートは、部分構造の縮合複素環として、2つの6員環からなる縮合環を有するのみであり、5員環と6員環からなる縮合環を有していない。

【0004】また、最近では、これら6員環と6員環とから形成される縮合環を基本骨格とする葉酸拮抗剤以外にも、6員環と5員環とから形成される縮合環、すなわち、ピロロ[2,3-d]ピリミジン骨格を有する化合物にも優れた抗腫瘍活性の存在することが報告されている。特開平02-167281には式：

【化5】

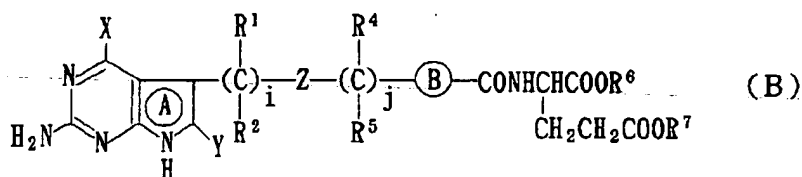


【式中、(A)環は、ピロールまたはピロリン環を、Xはアミノ基またはヒドロキシル基を、Yは水素原子、アミノ基またはヒドロキシル基を、Rは水素原子、フッ素原子、アルキル基、アルケニル基またはアルキニル基を、-COOR¹および-COOR²は同一または異なってエステル化されていてもよいカルボキシ基を、nは2ないし4の整数を示

し、Rはn個の繰り返しにおいてそれぞれ異なってもよい。】で表される化合物またはその塩が、

【0005】ヨーロッパ公開公報400562号には式：

【化6】



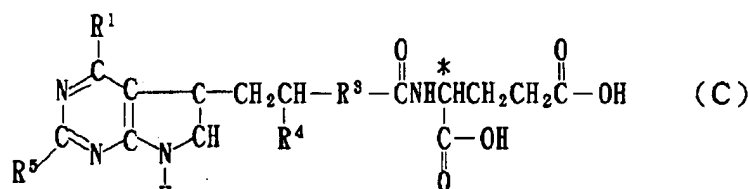
〔式中、①環は水素化されていてもよいピロール環を、Xはアミノ基、ヒドロキシ基またはメルカプト基を、Yは水素原子またはヒドロキシ基を、R¹、R²、R⁴およびR⁵は同一または異なって水素原子、低級炭化水素基または結合手を、Zは—O—、式—S(O)_n—〔式中、nは0ないし2の整数を示す

。〕または式—N—〔式中、R³は水素原子、置換基を有していてもよい低級炭化水素基、—CO—または—S(O)_m—(mは1または2を示す)を介

する基または結合手を示す。〕を、—②—は置換基を有していてもよい、2価の環状基または低級アルキレン基を、—COOR⁶—および—COOR⁷は同一または異なってエステル化されていてもよいカルボキシ基を、iおよびjはi+jが1ないし3の範囲内で0ないし3の整数をそれぞれ示す。〕で表される化合物またはその塩が、

【0006】米国特許4996206号には式：

【化7】

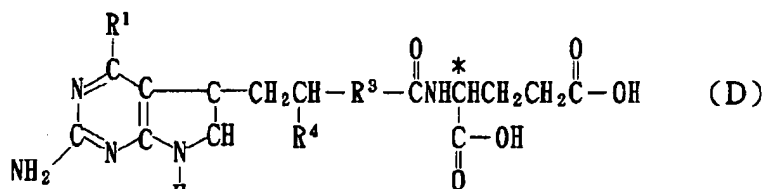


〔式中、R¹は—OHまたは—NH₂を、R³は塩素、フッ素、メチル、メトキシまたはトリフルオロメチルで置換されていてもよい1,4-フェニレン、1,3-フェニレン、チエニジルまたはフラニジル、シクロヘキサジニルまたはアルカンジニルを、R⁴は水素、メチルまたはヒドロキシメチルを、R⁵は水素または炭素数1ないし

6のアルキルを、*の付いている炭素原子の配位はSを示す。〕で表される化合物またはその医学的に許容される塩が、

【0007】米国特許5028608には式：

【化8】



〔式中、R¹は—OHまたは—NH₂を、R³は塩素、フッ素、メチル、メトキシまたはトリフルオロメチルで置換されていてもよいチエニジルまたはフラニジル、シクロヘキサジニルまたはアルカンジニルを、R⁴は水素、メチルまたはヒドロキシメチルを、*の付いている炭素原子の配位はSを示す。〕で表される化合物またはその医学的に許容される塩が記載されている。しかしこれらの化合物(A)、(B)、(C)および(D)は、ピロロ〔2,3-d〕ピリミジン骨格を有するが、側鎖においてオリゴグルタメートではない。

【0008】

【発明が解決使用とする課題】現在、癌の治療分野において特に要望されていることは、腫瘍細胞に対して高選択毒性を示し、かつ優れた治療効果を有する作用機序に基づく薬剤の創製である。ジヒドロ葉酸還元酵素の阻害を主作用機序としたMTXは、現在、臨床で広く使用されているが、比較的安全性が強くかつ固形癌に対してあまり効果がないなど、充分満足すべき治療効果を挙げていない。

【0009】

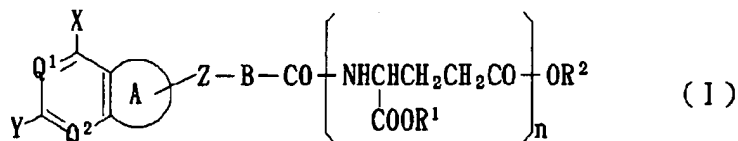
【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記事情に鑑み鋭意研究を積み重ねた結果、ある種の6員環と5員環とから形成される新規縮合複素環オリゴグルタメートの創製に成功すると共にこれが、細胞内に効率的に貯蔵され、葉酸およびその関連化合物の関与する1つ以上の核酸合成経路を阻害して、各種腫瘍細胞、特に固形腫瘍に対して高い選択毒性を示すとともに優れた抗腫瘍

作用を発揮すること、及びすぐれた溶解性（例えば水溶性）を有することを見出し、これらに基づいて本発明を完成した。

【0010】すなわち本発明は、

(1)一般式(I)

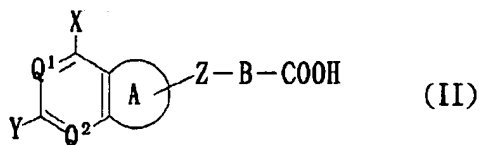
【化9】



〔式中、A環は置換基を有していてもよい5員環を、Bは置換基を有していてもよい2価の環状または鎖状基を、Q¹およびQ²は一方がNを他方がNまたはCHを、Xはアミノ基、ヒドロキシル基またはメルカプト基を、Yは水素原子、ハロゲン原子または炭素、窒素、酸素もしくは硫黄原子を介する基を、Zは置換基を有していてもよい炭素原子または置換基を有していてもよい炭素原子と置換基を有していてもよい1個のヘテロ原子とから構成される原子数2ないし5の直鎖状の2価の基を、COOR¹およびCOOR²は同一または異なってエステル化されていてもよいカルボキシル基を、nは2ないし6の整数を示し、R¹はn個の繰返しにおいてそれぞれ異なってもよい。〕で表される化合物またはその塩。

(2)一般式(II)

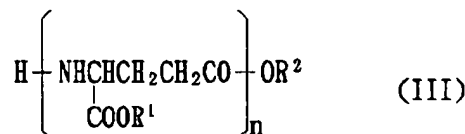
【化10】



〔式中の記号は一般式(I)と同意義を示す。〕で表される化合物またはそのカルボキシル基における反応性誘導

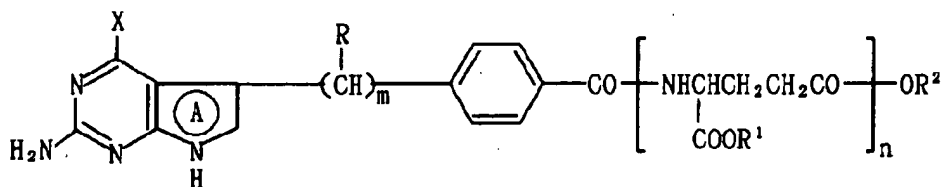
体と、一般式(III)

【化11】



〔式中の記号は一般式(I)と同意義を示す。〕で表される化合物とを反応させることを特徴とする一般式(I)の化合物またはその塩の製造法、(3)一般式(I)の化合物またはその塩を含有してなる抗腫瘍組成物、(4)Zが炭素数2ないし5のアルキレンである一般式(I)記載の化合物またはその塩、(5)nが2または3である一般式(I)記載の化合物またはその塩、(6)Xがヒドロキシル基、Zがジメチレンである一般式(I)記載の化合物またはその塩、(7)Q¹およびQ²がN、XおよびYがアミノ基、Zがトリメチレンである一般式(I)記載の化合物またはその塩、(8)A環がピロールまたはピロリンである一般式(I)記載の化合物またはその塩、(9)Bがフェニル-1, 4-イレンである一般式(I)記載の化合物またはその塩、(10)一般式

【化12】

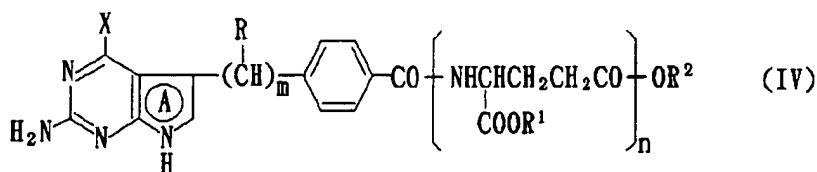


〔式中、A環は水素化されていてもよいピロール環を、Rは水素原子または低級アルキル基を、mは2ないし4の整数を示し、Rはm個の繰返しにおいてそれぞれ異なってもよく、他の記号は請求項1と同意義を示す〕で表される一般式(I)記載の化合物またはその塩、(11) [N-[4-[3-(2, 4-ジアミノ-7H-ピロロ[2, 3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-L-グルタミン酸、(12) [N-[4-[3-(2, 4-ジアミノ

-7H-ピロロ[2, 3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-γ-L-グルタミル-L-グルタミン酸、(13) [N-[4-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2, 3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-L-グルタミン酸、(14) [N-[4-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2, 3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-γ

—L—グルタミル—L—グルタミン酸を提供するものである。

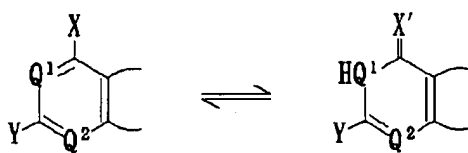
【0011】一般式(I)中、特に好ましい化合物は、一



【式中、(A)環は水素化されていてもよいピロール環を、Rは水素または低級アルキル基を、mは2ないし4の整数を、nは2ないし6の整数をそれぞれ示し、Rはm個の繰り返しにおいてそれぞれ異なってもよい。他の記号は一般式(I)と同意義である。】で表わされる化合物である。

【0012】上記式中、Xがヒドロキシ基またはメルカプト基である場合、化合物(I)、(II)および(IV)はその互変異性体との平衡混合物として存在することができる。以下に、互変異性可能な部分構造式を掲げ、それらの間の平衡関係を示す。

【化14】



X=OH, SH

X'=O, S

表示の便宜上、本明細書全般にわたって、ヒドロキシ型またはメルカプト型が記載され、それに相当する命名法が採用されているが、本発明は互変異性体であるオキソ体およびチオ体ならびにそれらの混合物をも含むものとする。また、本発明の化合物(I)またはその塩には複数の不整中心の存在が可能であるが、グルタミン酸に由来する側鎖の不整炭素原子の絶対配置がS(L)である以外、その他の不整中心の絶対配置はS、R、あるいはR/Sの混合物いずれであってもよい。この場合、複数のジアステレオアイソマーが存在するが、必要とあれば通常分離精製手段により容易に分離することができる。このようにして分離することができる上記総てのジアステレオアイソマーは本発明の範囲内に属する。上記一般式中、A環で示される5員の環としては、たとえば炭素原子あるいは炭素原子と1個のヘテロ原子(窒素原子、酸素原子または硫黄原子)とから構成される環などが用いられ、これらの環は置換基を有していてもよい。

【0013】該環としては、たとえば、シクロペンタジエン、シクロペンテン、フラン、ジヒドロフラン、チオフェン、ジヒドロチオフェン、チオフェン-1-オキシド、ジヒドロチオフェン-1-オキシド、チオフェン-1,1-ジオキシド、ジヒドロチオフェン-1,1-ジオキシド、ピロール、ピロリン、N-置換ピロールおよびN-置換ピロリンなどが挙げられる。これらの環は可能

般式(IV)

【化13】

な位置に1または2個の置換基を有していてもよく、かかる置換基の例としては、たとえば、炭素数1~3のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、iso-プロピル基)、炭素数2~3のアルケニル基(例、ビニル、1-メチルビニル、1-プロペニル、アリル、アレニル基)、炭素数2~3のアルキニル基(例、エチニル、1-プロピニル、プロパルギル基)、炭素数3~6のシクロアルキル基(例、シクロプロピル基)、ハロゲン原子(例、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素)、炭素数1~4のアルカノイル基(例、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル基)、ベンゾイル基、置換ベンゾイル基、好ましくはハロゲン原子、炭素数1~4のアルコキシ基で1ないし3個置換されたベンゾイル基(例、p-クロロベンゾイル、p-メトキシベンゾイル、3,4,5-トリメトキシベンゾイル基)、シアノ基、カルボキシ基、カルバモイル基、ニトロ基、ヒドロキシ基、ヒドロキシ-C₁₋₃アルキル基(例、ヒドロキシメチル基、ヒドロキシエチル基)、C₁₋₃アルコキシ-C₁₋₃アルキル基(例、メトキシメチル基、エトキシメチル基、メトキシエチル基、エトキシエチル基)、炭素数1~3のアルコキシ基(例、メトキシ、エトキシ、プロポキシ基)、メルカプト基、炭素数1~3のアルキルチオ基(例、メチルチオ、エチルチオ、プロピルチオ基)、アミノ基、置換アミノ基、好ましくは炭素数1~4のアルキル基で1または2個置換されたアミノ基(例、メチルアミノ、エチルアミノ、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ基)、炭素数1~2のアルカノイルアミノ基(例、ホルムアミド、アセタミド基)などが挙げられる。

【0014】N-置換ピロールおよびN-置換ピロリン環におけるN-置換部分としては、たとえば上述の炭素数1~3のアルキル基、炭素数2~3のアルケニル基、炭素数2~3のアルキニル基、炭素数3~6のシクロアルキル基(例、シクロプロピル)、炭素数1~4のアルカノイル基、ベンゾイル基、置換ベンゾイル基、ヒドロキシ-C₁₋₃アルキル基、C₁₋₃アルコキシ-C₁₋₃アルキル基などのほかフェニル基、置換フェニル基、好ましくはハロゲン原子、炭素数1~4のアルコキシ基で1ないし3個置換されたフェニル基(例、p-クロロフェニル、p-メトキシフェニル、3,4,5-トリメトキシフ

フェニル基)、ベンジル基あるいは置換ベンジル基、好ましくはハロゲン原子、炭素数1~4のアルコキシ基、フェニル基で1ないし3個置換されたベンジル基(例、p-クロロベンジル、p-メトキシベンジル、ジフェニルメチル基)などが挙げられる。A環とZとの結合は可能な位置のいずれで結合していてもよく、またA環がN-置換ピロールおよびN-置換ピロリン環の場合にはN-置換部分(即ちN位)で結合していてもよい。Bで示される置換基を有していてもよい2価の環状基における環状基としてはヘテロ原子(例、N、O、S)を環中に含んでいてもよい5~6員環状基が好ましく、結合手は環中の隣合わない位置から出ているのが好ましい。Bで示される該5員の2価の環状基の例としては、1,3-または3,5-シクロペンタジエン-1,3-イレン、シクロペンテン-1,3-、1,4-あるいは3,5-イレン、シクロペンタン-1,3-イレン、チオフェン-2,4-、2,5-あるいは3,4-イレン、フラン-2,4-、2,5-あるいは3,4-イレン、ピロール-1,3-、2,4-、2,5-あるいは3,4-イレン、チアゾール-2,4-または2,5-イレン、イミダゾール-1,4-、2,4-あるいは2,5-イレン、チアジアゾール-2,5-イレンあるいはそれらの部分還元型もしくは完全還元型化合物(例、2,3-あるいは4,5-ジヒドロピロール-2,4-、2,5-あるいは3,4-イレン、2,3,4,5-テトラヒドロピロール-2,4-、2,5-あるいは3,4-イレン等)等が挙げられる。

【0015】また、該6員の2価の環状基の例としては、フェニル-1,3-または1,4-イレン、シクロヘキサン-1,3-または1,4-イレン、シクロヘキセン-1,3-、1,4-、1,5-、3,5-あるいは3,6-イレン、1,3-シクロヘキサジエン-1,3-、1,4-、1,5-、2,4-、2,5-あるいは2,6-イレン、1,4-シクロヘキサジエン-1,3-、1,4-あるいは1,5-イレン、ピリジン-2,4-、2,5-、2,6-あるいは3,6-イレン、ピラン-2,4-、2,5-、2,6-、3,5-、3,6-あるいは4,6-イレン、ピラチン-2,5-または2,6-イレン、ピリミジン-2,4-または2,5-イレン、ピリダチン-3,5-イレンあるいはそれらの部分還元型もしくは完全還元型化合物(例、ピペリジン-2,4-、2,5-、2,6-あるいは3,6-イレン、ピペラジン-2,5-あるいは2,6-イレン等)等が挙げられ、特にフェニル-1,4-イレンおよびチオフェン-2,5-イレンなどが好ましい。

【0016】Bで示される置換基を有していてもよい2価の鎖状基としては、たとえば炭素数2~4個の鎖状炭化水素基などが好ましく、たとえば、エチレン、エチニレン、エチニレン、トリメチレン、プロペニレン、プロ

ピニレン、プロパジエニレン、テトラメチレン、ブテニレン、ブチニレンあるいはブタンジエニレンなどが挙げられる。Bで示される2価の環状基または鎖状基は置換可能な位置に1~2個の置換基を有していてもよい。該置換基としては、たとえば、炭素数1~3のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、iso-プロピル基)、炭素数2または3のアルケニル基(例、ビニル、1-プロペニル、アリル、アレニル基)、炭素数2または3のアルキニル基(エチニル、1-プロピニル、プロパルギル基)、炭素数3ないし6のシクロアルキル基(例、シクロプロピル)、ハロゲン(例、塩素、臭素、フッ素、ヨウ素)、ヒドロキシ、炭素数1ないし4のアルコキシ基(例、メトキシ)ジ-C₁₋₄アルキルアミノ基、(例、ジメチルアミノ)、ハロゲン-C₁₋₄アルキル基(例、トリフルオロメチル)、オキソ、C₁₋₃アシル基(例、ホルミル)、C₁₋₃アルコキシ-C₁₋₃アルキル基(例、メトキシメチル、2-エトキシエチル)などが挙げられる。

【0017】Yはたとえばシアノ基、カルボキシル基、カルバモイル基、ニトロ基、ヒドロキシル基、アミノ基あるいは低級炭化水素基、たとえば、炭素数1~3のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、iso-プロピル基)、炭素数2または3のアルケニル基(例、ビニル、1-メチルビニル、1-プロペニル、アリル、アレニル基)、炭素数2または3のアルキニル基(例、エチニル、1-プロピニル、プロパルギル基)および炭素数3ないし6のシクロアルキル基(例、シクロプロピル基)などでもよく、アリール基、好ましくは炭素数6ないし10のアリール基(例、フェニル基、ナフチル基)でもよく、窒素原子、酸素原子、あるいは硫黄原子等のヘテロ原子を1ないし3個有する5~6員の複素環基、たとえば、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、チエニル、フリル、チアゾリル、チアジアゾリル、オキサゾリル、オキサジアゾリル、ピリジル、ピラニル、ピラチニル、ピリミジニル、ピリダチニルあるいはそれらの部分還元型もしくは完全還元型の基(例、2,3,4,5-テトラヒドロピロリル、(1,2,3,4-、1,2,5,6-あるいは3,4,5,6-)テトラヒドロピリジル等)、ジオキサニル、ピペリジノ、モルホリノ、N-メチルピペラジニル、N-エチルピペラジニル、ジオキサニルなどでもよい。

【0018】Yが低級炭化水素基、アリール基および5~6員の複素環基である場合、1または2個の置換基を有していてもよく、かかる置換基としては、たとえば、炭素数1~3のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、iso-プロピル基)、炭素数2または3のアルケニル基(例、ビニル、1-メチルビニル、1-プロペニル、アリル、アレニル基)、炭素数2または3のアルキニル基(エチニル、1-プロピニル、プロパルギル基)または炭素数3ないし6のシクロアルキル基(例、シク

ロブプロシル基)などのほか、ハロゲン(例、フッ素)、ヒドロキシ、オキソ、炭素数1ないし4のアルコキシ基(例、メトキシ)、ジ- C_{1-4} アルキルアミノ基(例、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ)、ハロゲン- C_{1-4} アルキル基(例、トリフルオロメチル)、 C_{1-3} アシル基(例、ホルミル)、ヒドロキシ- C_{1-4} アルキル基(例、ヒドロキシメチル、2-ヒドロキシエチル)、 C_{1-4} アルコキシ- C_{1-4} アルキル基(例、メトキシメチル、2-エトキシエチル)等が挙げられる。Yで示されるハロゲン原子としては、フッ素、塩素、臭素あるいはヨウ素が挙げられる。Yはアルコキシ基、アルキルチオ基、アルカノイルアミノ基またはアルカノイルオキシ基などであってもよく、これらの基のアルキル部分としては、Yが低級炭化水素基である場合に例示された置換されていてもよい C_{1-3} アルキル基などがそのまま挙げられる。Yはアリールオキシ基、アリールチオ基、アロイルアミノ基またはアロイルオキシ基などであってもよく、これらの基のアリール部分としては、Yがアリール基である場合に例示された置換されていてもよい C_{6-10} アリール基などが挙げられる。さらに、Yは複素環オキシ基、複素環チオ基、複素環カルボニルアミノ基または複素環カルボニルオキシ基などでもよく、これらの複素環部分としては、Yが5~6員の複素環基である場合に例示された置換されていてもよい5~6員複素環基などがそのまま用いられる。Yはモノ置換およびジ置換アミノ基のような置換アミノ基でもよく、置換アミノ基の置換基部分としては上記した低級炭化水素基、アリール基および5~6員の複素環基などがそのまま用いられる。

【0019】Zで示される置換基を有していてもよい炭素原子あるいは置換基を有していてもよい炭素原子と1個の置換基を有していてもよいヘテロ原子(窒素原子、酸素原子あるいは硫黄原子)とから構成される原子数2~5個の直鎖状の2価基において、2~5個の炭素原子から構成される直鎖状の2価基としては、たとえば、エチレン、トリメチレン、テトラメチレン、ペンタメチレンなどの炭素数2~5個のアルキレン基、たとえば、ビニレン、プロペニレン、1-または2-ブテニレン、ブタジエニレン、1-または2-ペンテニレン、1,3-または1,4-ペンタジエニレンなどの炭素数2~5個のアルケニレン基、たとえば、エチニレン、1-または2-プロピニレン、1-または2-ブチニレン、1-, 2-または3-ペンチニレンなどの C_{2-5} アルキニレン基が挙げられる。

【0020】置換基を有していてもよい炭素原子と1個の置換基を有していてもよいヘテロ原子(窒素原子、酸素原子あるいは硫黄原子)とから構成される基としてはたとえば式： $-Z^1-Z^2-Z^3-$ [式中、 Z^1 および Z^3 は同一または異なって結合手または置換基を有していてもよい2価の低級炭化水素基を、 Z^2 は-O-、式： $-$

$S(O)_p-$ [式中、pは0~2の整数を示す。] または式： $-NR^3-$ [式中、 R^3 は水素原子または置換基を有していてもよい低級炭化水素基を示す。] で表される基を示す。] で表される基などが用いられる。 Z^1 および Z^2 で表される2価の低級炭化水素基としては、たとえば、メチレン、エチレン、トリメチレン、テトラメチレンなどの炭素数1~4個のアルキレン基、たとえば、ビニレン、プロペニレン、1-または2-ブテニレン、ブタジエニレンなどの炭素数2~4個のアルケニレン基、たとえば、エチニレン、1-または2-プロピニレン、1-または2-ブチニレンなどの炭素数2~4個のアルキニレン基などが用いられる。

【0021】 R^3 で表される低級炭化水素基としては、たとえば炭素数1~3のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、iso-プロピル基)、炭素数2または3のアルケニル基(例、ビニル、1-メチルビニル、1-プロペニル、アリル、アレニル基)、炭素数2または3のアルキニル基(エチニル、1-プロピニル、プロパルギル基)、炭素数3ないし6のシクロアルキル基(例、シクロプロピル基)などが挙げられる。Zで示される2~5個の炭素原子で構成される直鎖状の2価基、 Z^1 、 Z^3 で示される低級炭化水素基、および R^3 で示される低級炭化水素基は、1~2個の置換基を有していてもよく、かかる置換基としては、たとえば、炭素数1~3のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、iso-プロピル基)、炭素数2または3のアルケニル基(例、ビニル、1-メチルビニル、1-プロペニル、アリル、アレニル基)、炭素数2または3のアルキニル基(例、エチニル、1-プロピニル、プロパルギル基)、炭素数3ないし6のシクロアルキル基(例、シクロプロピル基)などのほか、ハロゲン原子(例、フッ素)、ヒドロキシ、オキソ、炭素数1ないし3のアルコキシ基(例、メトキシ)、ジ- C_{1-3} アルキルアミノ基(例、ジメチルアミノ、ジエチルアミノ)、ハロゲン- C_{1-3} アルキル基(例、トリフルオロメチル)、 C_{1-3} アシル基(例、ホルミル)、ヒドロキシ- C_{1-3} アルキル基(例、ヒドロキシメチル、2-ヒドロキシエチル)、 C_{1-3} アルコキシ- C_{1-3} アルキル基(例、メトキシメチル、2-エトキシエチル)等が用いられる。

【0022】本発明の好ましい化合物(IV)におけるAで示される水素化されていてもよいピロール環としてはピロール環およびピロリン環などが、Rで示される低級アルキル基としては炭素数1ないし3のアルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、iso-プロピル基)などが用いられる。 $-COOR^1$ および $-COOR^2$ で示されるエステル化されていてもよいカルボキシ基としては、たとえば炭素数1ないし5の低級アルキル基(例、メチル、エチル、プロピル、iso-プロピル、n-ブチル、iso-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、iso-ペンチル、sec-ペンチル、neo-ペンチル、t

ret-ペンチル基など)、置換基を有していてもよいベンジル基、好ましくはニトロ基または C_{1-4} アルコキシ基で置換されていてもよいベンジル基(例、ベンジル、ニトロベンジル、メトキシベンジル基など)または置換基を有していてもよいフェニル基好ましくはニトロ基または C_{1-4} アルコキシ基で置換されていてもよいフェニル基(例、フェニル、ニトロフェニル、メトキシフェニル基など)などによりエステル化されていてもよいカルボキシ基などが用いられる。mは2~4の整数、好ましくは3を、nは2~6、好ましくは、2~4の整数をそれぞれ示し、 R^1 はn個の繰り返しにおいて、Rはm個の繰り返しにおいてそれぞれ異なってもよい。

【0023】本発明の化合物(I)の代表的な例としては、

- 1) [N-[4-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸
- 2) [N-[4-[3-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸
- 3) [N-[5-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸
- 4) [N-[5-[3-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸
- 5) [N-[4-[N-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチルアミノ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

【0024】6) [N-[4-[N-2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチルアミノ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

- 7) [N-[4-[N-[(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチル]-N-メチルアミノ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸
- 8) [N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸
- 9) [N-[4-[N-[(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチル]-N-プロパルギルアミノ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

10) [N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-プロパルギルアミノ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

11) [N-[5-[N-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチルアミノ]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

【0025】12) [N-[5-[N-2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチルアミノ]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

13) [N-[5-[N-[(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチル]-N-メチルアミノ]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

14) [N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

15) [N-[5-[N-[(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチル]-N-プロパルギルアミノ]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

16) [N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-プロパルギルアミノ]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

17) [N-[4-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル)エチル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

18) [N-[4-[3-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル)プロピル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

19) [N-[5-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル)エチル]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

【0026】20) [N-[5-[3-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル)プロピル]-2-テノイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

21) [N-[4-[N-[(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-6-イル)メチル]-N-メチルアミノ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

22) [N-[4-[N-2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7-メチルピロロ[2,3-d]ピリミジン-6

-イル) エチル] -N-メチルアミノ] ベンゾイル] -
 γ-L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 23) [N- [5- [N- [(2-アミノ-4-ヒドロキシ
 シ-7-メチルピロロ [2, 3-d] ピリミジン-6-
 イル) メチル] -N-メチルアミノ] -2-テノイル]
 -γ-L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 24) [N- [5- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒド
 ロキシ-7-メチルピロロ [2, 3-d] ピリミジン-
 6-イル) エチル] -N-メチルアミノ] -2-テノイ
 ル] -γ-L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 25) [N- [4- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ
 シクロペンタピリミジン-5-イル) エチル] ベンゾイ
 ル] -γ-L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 26) [N- [4- [3- (2-アミノ-4-ヒドロキシ
 シクロペンタピリミジン-5-イル) プロピル] ベンゾ
 イル] -γ-L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 27) [N- [4- [2- (2, 4-ジアミノ-7H-ピ
 ロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] ベ
 ンゾイル] -γ-L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 28) [N- [4- [2- (2, 4-ジアミノ-6, 7-ジ
 ヒドロ-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-
 イル) エチル] ベンゾイル] -γ-L-グルタミル] -
 L-グルタミン酸
 29) [N- [4- [3- (2, 4-ジアミノ-6, 7-ジ
 ヒドロ-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-
 イル) プロピル] ベンゾイル] -γ-L-グルタミル]
 -L-グルタミン酸
 【0027】 30) [N- [4- [3- (2, 4-ジ
 アミノ-4-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-
 5-イル) -1-メチルプロピル] ベンゾイル] -γ-
 L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 31) [N- [4- [3- (2, 4-ジアミノ-6, 7-ジ
 ヒドロ-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-
 イル) -1-メチルプロピル] ベンゾイル] -γ-L-
 グルタミル] -L-グルタミン酸
 32) [N- [4- [2- (2, 4-ジアミノ-7H-ピ
 ロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -
 3-クロロベンゾイル] -γ-L-グルタミル] -L-
 グルタミン酸
 33) [N- [4- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ
 -7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル)
 エチル] -3-クロロベンゾイル] -γ-L-グルタミ
 ル] -L-グルタミン酸
 34) [N- [4- [3- (2, 4-ジアミノ-7H-ピ
 ロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) プロピル]
 -3-クロロベンゾイル] -γ-L-グルタミル] -L-
 グルタミン酸
 35) [N- [5- [2- (2, 4-ジアミノ-4-7H
 -ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチ
 ル] -2-テノイル] -γ-L-グルタミル] -L-グ

ルタミン酸

36) [N- [5- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ
 -7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル)
 エチル] -2-テノイル] -γ-L-グルタミル] -L-
 グルタミン酸
 37) [N- [4- [N-2- (2, 4-ジアミノ-7H
 -ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル
 アミノ] ベンゾイル] -γ-L-グルタミル] -L-グ
 ルタミン酸
 38) [N- [4- [N-2- (2, 4-ジアミノ-6, 7
 -ジヒドロ-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-
 5-イル) エチルアミノ] ベンゾイル] -γ-L-グル
 タミル] -L-グルタミン酸
 【0028】 39) [N- [4- [N- [2- (2, 4-
 ジアミノ-7-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン
 -5-イル) エチル] -N-メチルアミノ] ベンゾイ
 ル] -γ-L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 40) [N- [4- [N- [2- (2, 4-ジアミノ-7
 -5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル)
 エチル] -N- (tert-ブトキシカルボニル) アミノ]
 ベンゾイル] -γ-L-グルタミル] -L-グルタミン
 酸
 41) [N- [4- [2- (2, 4-ジアミノ-7H-ピ
 ロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] ベ
 ンゾイル] -γ-L-グルタミル] -L-グルタミン酸
 42) [N- [4- [2- (2, 4-ジアミノ-6, 7-ジ
 ヒドロ-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-
 イル) エチル] ベンゾイル] -γ-L-グルタミル] -
 L-グルタミン酸
 43) [N- [4- [3- (2, 4-ジアミノ-7H-ピ
 ロロ [2, 3-d] ピリミジン-6-イル) プロピル]
 ベンゾイル] -γ-L-グルタミル] -L-グルタミ
 ン酸
 44) [N- [4- [3- (2, 4-ジアミノ-6, 7-ジ
 ヒドロ-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-6-
 イル) プロピル] ベンゾイル] -γ-L-グルタミル]
 -L-グルタミン酸
 45) [N- [4- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ
 -7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル)
 エチル] ベンゾイル] -γ-L-グルタミル] -L-グ
 ルタミン酸
 46) [N- [4- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ
 -6, 7-ジヒドロ-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミ
 ジン-5-イル) エチル] ベンゾイル] -γ-L-グル
 タミル] -L-グルタミン酸
 47) [N- [4- [3- (2-アミノ-4-ヒドロキシ
 -6, 7-ジヒドロ-5H-ピロロ [2, 3-d] ピリミ
 ジン-5-イル) プロピル] ベンゾイル] -γ-L-グ
 ルタミル] -L-グルタミン酸
 48) [N- [4- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ

61) [N-[4-[3-(2-アミノ-4-ヒドロキシ
チエノ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピ
ル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタ
ミン酸

74) [N-[4-[N-(2-アミノ-4-ヒドロキシ
チエノ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチルア
ミノ]ベンゾイル]-γ-グルタミル]グルタミン

75) [N-[4-[N-[(2-アミノ-4-ヒドロキシチエノ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチル]-N-メチルアミノ]ベンゾイル]-γ-L-グルタミル]グルタミン酸

76) [N-[4-[N-[(2-アミノ-4-ヒドロキシチエノ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチル]-N-プロパルギルアミノ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]グルタミン酸

77) [N-[5-[N-(2-アミノ-4-ヒドロキシ
チエノ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチルア
ミノ]-2-テノイル]-γ-L-グルタミル]グルタ
ミン酸

【0032】78) [N-[5-[N-(2-アミノ-4-ヒドロキシチエノ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチル]-N-メチルアミノ]-2-テノイル]-γ-L-グルタミル] グルタミン酸

79) [N-[5-[N-[(2-アミノ-4-ヒドロキシチエノ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)メチル]-N-プロパルギルアミノ]-2-テノイル]-γ-L-グルタミル]グルタミン酸

80) [N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]-2-フルオロベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

81) [N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]-2-フルオロベンゾイル]- γ -L-グルタミル]- γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸

82) [N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-プロパルギルアミノ]-2-フルオロベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-L-グルタミン酸

83) [N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-プロパルギルアミノ]-2-フルオロベンゾイル]- γ -L-グルタミル]- γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸

84) $[N-[4-[N-[2-(2\text{-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ}[2,3-d]\text{ピリミジン-5-イル)エチル}]-N\text{-プロパルギルアミノ}]-2\text{-クロロベンゾイル}]-\gamma\text{-L-グルタミル}]-\text{L-グルタミン酸}$

85) [N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-プロパルギルアミノ]-2-クロロベンゾイル]-γ-L-グルタミル]-γ-L-グルタミル-L-グルタミン酸

【0033】86) [N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]チアゾール-2-イルカルボニル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

87) [N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]チアゾール-2-イルカルボニル]-γ-L-グルタミル]-γ-L-グルタミル-L-グルタミン酸

88) [N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]ピリジン-2-イルカルボニル]-γ-L-グルタミル]-L-グルタミン酸

89) [N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]ピリジン-2-イルカルボニル]-γ-L-グルタミル]-γ-L-グルタミル-L-グルタミン酸

90) [N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-プロパルギルアミノ]チアゾール-2-イルカルボニル]-γ-L-グルタミル]-L-グルタミン酸

91) [N- [5- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] チアゾール-2-イルカルボニル] -γ-L-グルタミル] -γ-L-グルタミル-L-グルタミン酸

92) [N- [5- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] ピリジン-2-イルカルボニル] - γ -L-グルタミル] -L-グルタミン酸

93) [N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリジン-5-イル)エチル]-N-プロパルギルアミノ]ピリジン-2-イルカルボニル]- γ -L-グルタミル]- γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸

【0034】94) [N-[4-[2-(4-ヒドロキシ-2-メチル-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-2-クロロベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸

95) [N-[4-[2-(4-ヒドロキシ-2-メチル-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-2-クロロベンゾイル]- γ -L-グルタミル]- γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸

96) [N-[4-[2-(4-ヒドロキシ-2-メチル-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル]

120) [N-[5-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イ

ル) エチル] - 2-テノイル] - γ -L-グルタミル]
 - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸
 121) [N- [4- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] ベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸
 【0037】 122) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] ベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸
 123) [N- [5- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチルアミノ] - 2-テノイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸
 124) [N- [5- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] - 2-テノイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸
 125) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-メチルアミノ] - 3-フルオロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - L-グルタミン酸
 126) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-メチルアミノ] - 3-フルオロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸
 127) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] - 3-フルオロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - L-グルタミン酸
 128) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] - 3-フルオロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸
 129) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-メチルアミノ] - 2-クロロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - L-グルタミン酸
 【0038】 130) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-メチルアミノ] - 2-クロロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸
 131) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒ

ドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] - 3-クロロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - L-グルタミン酸

132) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] - 3-クロロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸

133) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-メチルアミノ] - 3-クロロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - L-グルタミン酸

134) [N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-メチルアミノ] - 3-クロロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] - γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸並びにそれらの薬理的に許容しうる塩

および前記したジグルタメートに対応するトリグルタメートが挙げられる。

【0039】 つぎに、本発明化合物(I)またはその塩の製造法について説明する。化合物(I)またはその塩は、式(III)で表わされるオリゴグルタミン酸誘導体を式(I)で表わされるカルボン酸またはそのカルボキシ基における反応性誘導体でアシル化することにより得られる。上記アシル化の手段としては、たとえば、化合物(III)をカルボジイミド類、ジフェニルりん酸アジドあるいはシアノりん酸ジエチルの存在下、化合物(II)またはその反応性誘導体でアシル化する方法などが用いられる。化合物(III)の使用量は、化合物(II)またはその反応性誘導体1モルに対して一般に約1~20モル、好ましくは約1~5モルである。カルボジイミド、ジフェニルホスホリルアジドまたはジエチルシアノホスホネート類は、化合物(II)またはその反応性誘導体1モルに対して、一般に約1~25モル、好ましくは約1~5モル使用すればよい。該カルボジイミド類としては、ジシクロヘキシルカルボジイミドが実用上好ましく、その他のカルボジイミド類、たとえばジフェニルカルボジイミド、ジ-ortho-トリルカルボジイミド、ジ-p-トリルカルボジイミド、ジ-tert-ブチルカルボジイミド、1-シクロヘキシル-3-(2-モルホリノエチル)カルボジイミド、1-シクロヘキシル-3-(4-ジエチルアミノシクロヘキシル)カルボジイミド、1-エチル-3-(2-ジエチルアミノプロピル)カルボジイミドおよび1-エチル-3-(3-ジエチルアミノプロピル)カルボジイミドなどを用いてもよい。

【0040】 本アシル化反応は、適宜の溶媒の存在下を実施するのが好ましく、該溶媒としては、たとえば、水、アルコール類(例、メタノール、エタノール)、エ

ーテル類（例、ジメチルエーテル、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、モノグリム、ジグリム）、ニトリル類（例、アセトニトリル）、エステル類（例、酢酸エチル）、ハロゲン化炭化水素（例、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素）、芳香族炭化水素（例、ベンゼン、トルエン、キシレン）、アセトン、ニトロメタン、ピリジン、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミド、ヘキサメチルホスホルアミド、スルホランまたはそれらの適宜の混合溶媒などが使用される。本反応は、通常、pH約2ないし14、好ましくはpH約6ないし9の範囲で行なうのがよい。約-10℃からその反応溶媒の沸点程度（約100℃まで）、好ましくは約0ないし50℃の範囲の反応温度が用いられる。約1ないし100時間、好ましくは約2ないし48時間反応させて実施し得る。反応後のpHは適宜、酸（例、塩酸、硫酸、磷酸、硝酸、酢酸）、塩基（例、ナトリウムメチラート、ナトリウムエチラート、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化バリウム、水酸化リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸バリウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリエタノールアミン、ピリジン）あるいは緩衝液（例、リン酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、酢酸緩衝液）などで必要に応じて調整する。

【0041】なお、本反応は、アシル化を促進しうる触媒を用いることによりさらに有利に進行させることができる。このような触媒としては、たとえば塩基触媒、酸触媒などが挙げられる。かかる塩基触媒としては、たとえば三級アミン（例、トリエチルアミンのごとき脂肪族三級アミン；ピリジン、 α -、 β -または γ -ピコリン、2,6-ルチジン、4-ジメチルアミノピリジン、4-(1-ピロリジニル)ピリジン、ジメチルアニリン、ジエチルアニリンのごとき芳香族三級アミン)などが挙げられ、酸触媒としては、たとえばルイス酸〔例、無水塩化亜鉛、無水塩化アルミニウム(AlCl_3)、無水塩化第二鉄、四塩化チタン(TiCl_4)、四塩化錫(SnCl_4)、五塩化アンチモン、塩化コバルト、塩化第二銅、三フッ化ホウ素エーテラート等〕などが挙げられる。上記触媒の中でも、4-ジメチルアミノピリジンまたは4-(1-ピロリジニル)ピリジンなどが好ましい場合が多い。触媒の使用量は、アシル化を促進し得る触媒程度がよく、通常、化合物(II)またはその反応性誘導体1モルに対して約0.01-10モル、好ましくは約0.1-1モルである。化合物(II)のカルボキシ基における反応性誘導体としては、たとえば、カルボン酸(II)の酸ハライド（例、フルオライド、クロライド、ブロマイド、アイオダイド）、酸無水物（例、無水ヨード酢酸、無水イソ酪酸）、低級モノアルキル炭酸エステル（例、モノメチル炭酸エステル、モノエチル炭酸エステル、モノプロピル炭酸エステル、モノiso-プロピル炭酸エステル、モノブチル炭酸エステル、モノiso-ブチ

ル炭酸エステル、モノsec-ブチル炭酸エステル、モノtert-ブチル炭酸エステル）との混酸無水物、活性エステル（例、シアノメチルエステル、カルボエトキシメチルエステル、メトキシメチルエステル、フェニルエステル、o-ニトロフェニルエステル、p-ニトロフェニルエステル、p-カルボメトキシフェニルエステル、p-シアノフェニルエステル、チオフェニルエステル）、酸アジド、リン酸ジエステル（例、ジメチルホスフェート、ジエチルホスフェート、ジベンジルホスフェート、ジフェニルホスフェート）との混酸無水物、亜リン酸ジエステル（例、ジメチルホスファイト、ジエチルホスファイト、ジベンジルホスファイト、ジフェニルホスファイト）との混酸無水物などが挙げられる。この反応性誘導体を用いたアシル化手段において、溶媒、触媒、および反応温度などは、上記カルボジイミド、ジフェニルホスフォルアジドまたはジエチルシアノホスホネート類の存在下に行うアシル化の場合と同様である。

【0042】なお、化合物(I)またはその塩のうち、 $-\text{COOR}^1$ および $-\text{COOR}^2$ がカルボキシ基である化合物(I-I)は、たとえば化合物(III)のうち $-\text{COOR}^1$ および $-\text{COOR}^2$ がエステル化されたカルボキシ基である化合物を上記した化合物(II)またはそのカルボキシ基における反応性誘導体と反応させた後、自体公知の分解反応あるいは接触還元反応に付して脱エステルするなどにより製造することもできる。該分解反応としては、たとえば、塩基性条件下における加水分解反応(A法)、酸性条件下における加水分解反応(B-1法)、酸性非水条件下における分解反応(B-2法)などが挙げられる。A法において用いられる塩基としては、たとえば、ナトリウムメトキシド、ナトリウムエトキシド、ナトリウムブトキシド、カリウムブトキシドなどの金属アルコキシド、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、水酸化バリウムなどの金属水酸化物、アンモニア、トリエチルアミン、ピリジンなどのアミン類が挙げられ、B-1法においては用いられる酸としては、たとえば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などの鉱酸、トリフルオロ酢酸、トリクロロ酢酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などの有機酸が挙げられ、B-2法において用いられる酸としては、たとえば、塩化水素、臭化水素、過塩素酸、硫酸、硝酸、リン酸などの鉱酸、トリフルオロ酢酸、トリクロロ酢酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などの有機酸、無水塩化亜鉛、無水塩化アルミニウム(AlCl_3)、無水塩化第二鉄、四塩化チタン(TiCl_4)、四塩化錫(SnCl_4)、五塩化アンチモン、塩化コバルト、塩化第二銅、三フッ化ホウ素エーテラートなどのルイス酸が挙げられる。分解反応は、いずれの場合も、適宜な溶媒中0℃からその溶媒の沸点、好ましくは10-80℃の範囲で、

30分間～2日間反応することにより行われる。反応溶媒としては、A法およびB-1法の場合、たとえば、水、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール、エチレングリコール、メトキシエタノール、エトキシエタノール、テトラヒドロフラン、ジオキサン、モノグリム、ジグリム、ピリジン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、スルホランまたはそれらの適宜な混合物が使用され、B-2法の場合には、たとえば、酢酸エチル、ジメチルエーテル、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、モノグリム、ジグリム、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、アセトニトリル、ベンゼン、トルエン、キシレン、ニトロメタン、ピリジンまたはそれらの適宜の混合溶媒が使用される。

【0043】該接触還元反応（C法）としては、適宜な溶媒を用いて約-40℃からその反応溶媒の沸点、より好ましくは約0～50℃の範囲の温度で実施される。使用される溶媒としては、水、アルコール類（例、メタノール、エタノール、プロパノール、iso-プロパノール、ブチルアルコール、sec-ブチルアルコール、tert-ブチルアルコール、エチレングリコール、メトキシエタノール、エトキシエタノール）、酢酸エステル類（例、酢酸メチル、酢酸エチル）、エーテル類（例、ジメチルエーテル、ジエチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン、モノグリム、ジグリム）、芳香族炭化水素（例、ベンゼン、トルエン、キシレン）、ピリジン、ジメチルホルムアミド、ならびにそれらの適宜の混合溶媒が挙げられる。接触還元の触媒としては、たとえば、パラジウム、白金、ロジウム、ラネーニッケルなどが用いられる。この際、微量の酢酸、トリフルオロ酢酸、塩酸、硫酸などを添加すると反応を有利に進行させることができる。いずれの反応によって化合物（I-1）またはその塩へ誘導するかは原料化合物(III)における $-COOR^1$ および $-COOR^2$ の性質によっても異なるが、通常、化合物(III)における $-COOR^1$ および $-COOR^2$ がメチル、エチル、プロピル、ブチル、sec-ブチル、フェニルあるいは置換フェニル基によりエステル化されたカルボキシ基のときはA法またはB-1法、 $-COOR^1$ および $-COOR^2$ がiso-プロピルあるいはtert-ブチル基によりエステル化されたカルボキシ基のときはB-2法、また、ベンジル基あるいは置換ベンジル基によりエステル化されたカルボキシ基のときはB-1法またC法が有利に適用される。なお、 $-COOR^1$ および $-COOR^2$ が異なる場合、上記A法、B-1法、B-2法およびC法を適宜組み合わせればよい。

【0044】本反応で用いられる原料化合物(II)またはその反応性誘導体は特開平2-167281号あるいはヨーロッパ公開公報438261号に記載の方法で、また原料化合物(III)は文献公知の方法〔ジェイ・ピー・グリーンスタイン他（J. P. Greenstein and M. Winit

z）、ケミストリー・オブ・ザ・アミノ・アシッツ 第1-3巻（Chemistry of the Amino Acids vol. 1-3）、John Wiley & Sons, Inc., New York・London（1961）〕に従って容易に得ることができる。上記の各製造工程において必要に応じて使用される各官能基に対する保護基の適用などに関しては、つぎに掲げる文献において公知の方法を用いることができる〔ジェイ・エフ・タブリュウ・マッコウミン（J. F. W. McOmne）、プロテクティブ・グループ・イン・オルガニック・ケミストリー（Protective Groups in Organic Chemistry）、Plenum Press and New York（1973）〕、〔パイン・ヘンドリックソン・ハモンド、有機化学（第4版）〔I〕-〔II〕、広川書店（1982）〕および〔エム・ファイザーら（M. Fieser and L. Fieser）、リージェント・フォア・オルガニック・シンセシス 第1-13巻（Reagents for Organic Synthesis vol. 1-13）、Wiley-Interscience, New York London Sydney and Toronto（1969-1988）〕。さらに、化合物（I）またはその塩においてXで示されるアミノ基、ヒドロキシ基あるいはメルカプト基は、必要に応じて、文献公知のピリミジン環上の置換基変換反応により互いに変換することもできる〔別冊蛋白質核酸酵素、核酸の化学合成、共立出版〕。

【0045】本発明化合物（I）は塩を形成していてもよい。塩基の塩としては、アルカリ金属、アルカリ土類金属、非毒性金属、アンモニウムおよび四級アンモニウム、たとえば、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウム、マグネシウム、アルミニウム、亜鉛、アンモニウム、トリメチルアンモニウム、トリエチルアンモニウム、トリエタノールアンモニウム、ピリジニウム、置換ピリジニウムなどとの塩が挙げられる。酸の塩としては、たとえば、塩酸、硫酸、硝酸、リン酸、ホウ酸などとの鉱酸塩、シュウ酸、酒石酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、カンファースルホン酸などの有機酸などとの塩が挙げられる。塩のうち、例えばカリウム、ナトリウム、カルシウム等のアルカリ金属、アルカリ土類金属等との塩のような薬理学的に許容しうる塩が特に好ましい。上記方法で製造される本発明化合物（I）またはその塩は、通常分離手段、たとえば、濃縮、溶媒抽出、クロマトグラフィー、再結晶などにより、反応混合物から単離することができる。

【0046】

【作用】本発明化合物（I）またはその塩は、優れた水溶性を有し、かつ細胞内に効率的に貯蔵され、葉酸およびその関連化合物を基質とする1種類以上の酵素に対して阻害作用を有する。従って、これら化合物は、現在までMTXで治療されてきたじゅう毛癌、白血病、乳房腺癌、頭頸部表皮癌、扁平上皮癌、小細胞肺癌およびリンパ肉腫はもとより、その他の各種腫瘍を治療する目的で

単独あるいは他の抗腫瘍剤と併用で安全に使用することが可能である。抗腫瘍剤として用いる場合、化合物(I)またはその塩を、それ自体あるいは通常用いられる方法により薬理学的に許容されうる担体、賦形剤、希釈剤などを使用して、たとえば、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、坐剤、注射剤などの形態として、経口的または非経口的に温血動物、特に哺乳動物(例えば、ヒト、猿、犬、猫、ウサギ、ラット、マウス等)に投与し得る。投与量は、対象動物、疾患、症状、化合物の種類、投与経路などにより異なるが、たとえば、経口投与の場合は、本発明化合物(I)またはその塩として上記温血動物に1日当たり約2.0~200mg/kg体重、好ましくは約1.0~200mg/kg体重、より好ましくは約2.5~50mg/kg体重であり、非経口投与の場合は1日当たり約0.5~100mg/kg、好ましくは1.0~100mg/kg、より好ましくは1.0~20mg/kgである。注射剤としての投与方法としては、筋肉内注射、腹腔内注射、皮下注射、静脈注射などが挙げられる。かかる投与により、有意な毒性なしに腫瘍の治療が行える。

【0047】上記製剤化は、自体公知の方法に従って行われる。上記経口製剤、たとえば、錠剤を製造する際には、結合剤(例、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、マクロゴールなど)、崩壊剤(例、デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウムなど)、滑沢剤(例、ステアリン酸マグネシウム、タルクなど)などを適宜配合することができる。また、非経口製剤、たとえば、注射剤を製造する際には、等張化剤(例、ブドウ糖、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど)、防腐剤(例、ベンジルアルコール、クロロブタノール、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸プロピルなど)、緩衝液(例、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液など)などを適宜配合することができる。錠剤の製造の具体例としては、たとえば、1錠当たりの使用量として本発明化合物(I)またはその塩1.0~50mg、乳糖100~500mg、コーンスターチ約50~100mg、ヒドロキシプロピルセルロース約5~20mgを常法により混合し、顆粒化し、コーンスターチおよびステアリン酸マグネシウムと混和後、打錠して、1錠約100~500mg、直径約3~10mmの錠剤とする。また、この錠剤を1錠当たりの使用量として、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート(約10~20mg)とヒマシ油(約0.5~2.0mg)とを濃度約5~10%となるように溶解したアセトン-エタノール混液を用いて、コーティングすることにより腸溶性の被覆錠とすることもできる。注射剤の調整の具体例としては、たとえば、1アンプル当たりの使用量として、本発明化合物(I)のナトリウム塩約2.0~50mgを①約2mlの生理食塩水に溶解したものをアンプルに注入した後密封をし、これを約110℃で約30分間熱滅菌するか、あるいは②

約10~40mgのマンニトールまたはソルビトールを約2mlの滅菌した蒸留水に溶かした溶液に溶解したものをアンプルに注入し、これを凍結乾燥して封をすることによっても調整することができる。この凍結乾燥した本発明注射剤の使用に際しては、該アンプルを開封し、たとえば生理食塩水に化合物(I)の濃度が約0.5~100mg/ml、好ましくは約1.0~50mg/ml、より好ましくは1.0~20mg/mlとなるように溶解した溶液とし、皮下、静脈または筋肉内に投与することができる。

【0048】以下に、本発明における化合物(I)またはその塩の薬理効果を示す実験について記載する。後述の実施例で得られる目的物(I)またはその塩の代表的化合物について、チミジル酸シンターゼ(TS)阻害作用および5-アミノイミダゾール-4-カルボキシアミド・リボヌクレオチド・トランスホルミラーゼ(AICARTF)阻害作用、さらに、in vitroにおけるMeth A線維肉腫細胞に対する細胞増殖阻害作用を下記の方法により測定した。

【0049】実験例1

TS阻害作用の測定

TSの粗精製画分は、in vitroにおいて継代しているMeth A線維肉腫細胞(Meth A)より調製した。細胞培養は10%(V/V)牛胎児血清を含むEagle's minimum essential medium [MEM; 日本製薬]を使用した。対数増殖期の細胞を回収し、りん酸緩衝生理食塩水で2回洗浄し、0.2Mスクロース、0.01Mトリス-塩酸緩衝液(pH 7.5)に懸濁後、細胞を超音波粉砕し、100,000xg遠心上清を得た。牛γグロブリンを標準タンパク質として、プロティン・ダイ試験(Bio-Rad)でタンパク質濃度を求め、タンパク質濃度を10mg/mlとして調製した。酵素反応はD. Robertsによる[バイオケミストリー(Biochemistry) 5、3546(1966)]に記載の方法を一部改変し次のように行った。反応液の組成を0.058%(V/V)ホルムアルデヒド、6.78mMふっ化ナトリウム、0.2mM 2-メルカプトエタノール、6.24mg/ml牛血清アルブミン、80μM 2'-デオキシウリジン-5'-リン酸(dUMP)、80μM テトラヒドロ葉酸、2mg/ml TSの粗精製画分、0.173Mトリス-塩酸緩衝液(pH 7.5)とし、各種濃度の実施例化合物を添加した。最終反応液量50μlあたり540KBqの[³H] dUMPを添加し、96穴ウェルプレート内で37℃ 1時間反応した。反応終了後、26.65%(V/V)トリクロロ酢酸、3.33mg/ml dUMPを添加して反応を停止し、11.4mg/ml活性炭を220μlを添加し、全量を遠心し上清100μl中の放射性を液体シンチレーション法で測定し、TSの活性を50%阻害するのに必要な濃度(IC₅₀値)が得られた。結果を表1に示す。

【0050】実験例2

AICARTF阻害作用の測定

AICARTFは、S. J. Benkovic らによる [バイオケミストリー (Biochemistry) 20、337 (1981)] に記載の方法を一部改変し、CCRF-CEMヒトリンパ芽球白血病細胞より調製した。酵素反応は、3.2.5 μ M トリス-塩酸緩衝液 (pH 7.4)、5 μ M 2-メルカプトエタノール、2.5 μ M 塩化カリウム、0.1 μ M (-)-10-ホルミルテトラヒドロ葉酸およびAICARTFよりなる0.95mlの溶液に、各種濃度の実施例化合物を添加し、さらに、1mM 5-アミノイミダゾール-4-カルボキシアミド・リボヌクレオチド0.05mlを加えて反応を開始した。298nmで15秒おきに5分間紫外スペクトルを測定し、テトラヒドロ葉酸の生成に伴う吸光度の増加により評価を行い、AICARTFの活性を50%阻害するのに必要な濃度 (IC₅₀値) が得られた。結果を〔表1〕に示す。

【0051】

〔表1〕

化合物	IC ₅₀ (μ M)	
	TS	AICARTF
実施例6	36	9
実施例7	40	6
実施例8	21	0.6
実施例9	20	0.4
実施例10	20	0.2

表1から本発明目的物が葉酸代謝に関連する2つの酵素 (TS及びAICARTF) に対する阻害作用を有することが示される。

実験例3

Meth A線維肉腫 (Meth A) 細胞に対する細胞増殖阻害作用の測定

常法により調整した Meth A細胞 (2 \times 10⁴個/ml) を12穴ウェルプレートに各穴2.0mlづつ接種し、37℃ 5% CO₂の条件下で静置培養した。適当な濃度に溶解した実施例化合物をMEM (日本製薬) 溶液で2~10倍段階希釈して培地内に添加し、再び、37℃ 5% CO₂の条件下で72時間静置培養した。ついで、各濃度での総細胞数をコールターカウンター (Coulter Electronics, FL) で計測し、3ウェルの平均値を1mlあたりの細胞数で表した。それぞれの化合物について、無処理対照群の細胞数を50%に減少させるのに要した薬物の濃度をその化合物のIC₅₀値とした。結果を〔表2〕に示す。

〔表2〕

化合物	IC ₅₀ (μ M)
実施例6	0.61
実施例7	0.58

表2から本発明目的物がMeth A線維肉腫細胞に対する細胞増殖阻害作用を有することが示される。

【0052】

【実施例】つぎに参考例と実施例を挙げて本発明を具体的に説明する。以下の実施例のNMRスペクトルは内部基準としてテトラメチルシランを用いてジェミニ (Gemini) 200 (200MHz) 型スペクトロメーターで測定し、全 δ 値をppmで示した。実施例中の記号は次のような意味を有する。

s	: シングレット
d	: ダブルレット
t	: トリプレット
ABq	: AB型クワルテット
dd	: ダブル ダブルレット
dt	: ダブル トリプレット
m	: マルチプレット
br.	: 幅広い
J	: カップリング定数
sh	: ショルダー
Hz	: ヘルツ
CDCl ₃	: ジクロロホルム
DMSO-d ₆	: ジメチルスルフォキシド
D ₂ O	: 重水
室温	: 10~30℃
%	: 重量パーセント

【0053】参考例1

[N-(tert-ブトキシカルボニル)-O¹-メチル-L-グルタミン]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

N-(tert-ブトキシカルボニル)-L-グルタミン酸メチルジシクロヘキシルアミン塩 (10.04g) を酢酸エチル (110ml) と2モル硫酸水素ナトリウム (44ml) 水溶液の混液に分散し、分液ロート中、激しく振とうし、溶解させた。水層を廃棄し、有機層を2モル硫酸水素ナトリウムおよび飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下に溶媒を留去して得られた残渣全量と γ -ベンジル-L-グルタミン酸エチル塩酸塩 (7.18g) とを乾燥ジメチルホルムアミド (50ml) に溶解し、0℃でシアノりん酸ジエチル (4.07g) の乾燥ジメチルホルムアミド溶液 (50ml) を加えて15分間攪拌した。ついで、トリエチルアミン (4.82g) の乾燥ジメチルホルムアミド溶液 (50ml) を滴下し、0℃で1時間攪拌後、さらに室温で15時間攪拌した。反応液をベンゼン (1000ml)

と酢酸エチル (2000ml) で希釈し、5%塩酸、水、飽和食塩水、飽和重曹水、水、飽和食塩水で順次洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下に溶媒を留去し、得られた残渣をクロロホルム/石油エーテルより再結晶すると表題化合物 (8.79g) が得られた。
施光度: $[\alpha]_D^{22} - 23.4^\circ$ ($c = 1.0$, MeOH)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.44(9H, s), 1.82-2.33 (6H, m), 2.40-2.58(2H, m), 3.73(6H, s), 4.20-4.37(1H, m), 4.61(1H, dt, $J = 7.6, 1.2\text{Hz}$), 5.12(2H, s), 5.20-5.33(1H, m), 6.46-6.60(1H, m), 7.36(5H, s)

IR (KBr): 3350, 1740, 1680, 1640, 1520 cm^{-1}

【0054】参考例2

[N-(tert-ブトキシカルボニル)-O¹-メチル- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸メチルジシクロヘキシルアミン塩の製造

参考例1の化合物 (3.88g) のメタノール溶液 (60ml) に10%パラジウム炭素 (390mg; エンゲルハルト社製) を加えて、水素雰囲気下、2.5時間攪拌した。触媒を、セライトを用いて濾過後、濾液を減圧下に留去した。得られた残渣をエーテル (50ml) に溶解し、0℃に冷却後、攪拌下にジシクロヘキシルアミン (1.72ml) を加えた。10分間攪拌後、析出した結晶を濾取し、エーテルで洗浄すると表題化合物 (3.97g) が得られた。

施光度: $[\alpha]_D^{20} - 17.8^\circ$ ($c = 1.0$, MeOH)

IR (KBr): 3300, 2940, 2850, 1750, 1525, 1710, 1670, 1540 cm^{-1}

【0055】参考例3

[O¹-メチル- γ -L-グルタミル]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチル塩酸塩の製造

参考例2の化合物 (3.88g) のジクロロメタン (250ml) 溶液にトリフルオロ酢酸 (6.5ml) を添加し、室温で4時間攪拌後、減圧下に溶媒を留去した。得られた残渣を水-ジクロロメタン (1:1, 100ml) に溶解し、飽和重曹水で中和後、有機層を分取し、ついで、この有機層を飽和食塩水で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下に溶媒を留去し、残渣をエーテル (50ml) に溶解後、0.4モル塩酸エーテル溶液 (30ml) を添加した。析出した結晶を濾取し、乾燥すると表題化合物 (2.73g) が得られた。

施光度: $[\alpha]_D^{20} + 25.9^\circ$ ($c = 1.0$, MeOH)
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.95-2.70(8H, m), 3.67(3H, s), 3.75(3H, s), 4.19-4.22(1H, m), 4.43-4.58(1H, m), 5.09(2H, s), 7.73(5H, s), 7.64-7.79(1H, m)

【0056】参考例4

[N-(tert-ブトキシカルボニル)-O¹-メチル- γ -L-グルタミル]-[O¹-メチル- γ -L-グルタミル]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

参考例1と同様にして、参考例2の化合物 (1.75g) および γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチル塩酸塩 (975mg) から、表題化合物 (1.61g) が得られた。

施光度: $[\alpha]_D^{21} + 31.1^\circ$ ($c = 1.0$, MeOH)
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.44(9H, s), 1.70-1.55(12H, m), 3.73(9H, s), 4.22-4.36(1H, m), 4.50-4.65(2H, m), 5.12(2H, s), 5.29(1H, d, $J = 8.6\text{Hz}$), 6.67(1H, d, $J = 7.8\text{Hz}$), 6.80(1H, d, $J = 8.4\text{Hz}$), 7.35(5H, s)

IR (KBr): 3310, 1740, 1680, 1645, 1535 cm^{-1}

【0057】参考例5

[N-(tert-ブトキシカルボニル)-O¹-メチル- γ -L-グルタミル]-[O¹-メチル- γ -L-グルタミル]-[O¹-メチル- γ -L-グルタミル]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

参考例1と同様にして、参考例2の化合物 (1.75g) および参考例3の化合物 (1.385g) から、表題化合物 (1.87g) が得られた。

施光度: $[\alpha]_D^{21} - 32.0^\circ$ ($c = 1.0$, MeOH)
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.44(9H, s), 7.72-2.56(16H, m), 3.71(9H, s), 3.73(3H, s), 4.22-4.40(1H, m), 4.53-4.72(3H, m), 5.11(2H, s), 5.36(1H, d, $J = 9.0\text{Hz}$), 6.51(1H, d, $J = 7.6\text{Hz}$), 6.97(1H, d, $J = 7.6\text{Hz}$), 7.34(1H, m), 7.35(5H, s)

IR (KBr): 3300, 1740, 1680, 1645, 1535 cm^{-1}

【0058】参考例6

[N-(tert-ブトキシカルボニル)-O¹-メチル- γ -L-グルタミル]-[O¹-メチル- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸メチルの製造

参考例4の化合物 (830mg) のメタノール溶液 (25ml) に10%パラジウム炭素 (85mg) を加え、水素雰囲気下で2時間攪拌後、触媒をセライトを用いて濾留した。濾液を減圧下に留去すると表題化合物 (710mg) が得られた。薄層クロマトグラフィー (E. Merck 社製、Silica Gel 60 F₂₅₄、展開溶媒; クロロホルム: メタノール = 10:1): R_f = 0.10

本品は、これ以上精製することなく次の参考例8において使用した。

【0059】参考例7

[N-(tert-ブトキシカルボニル)-O¹-メチル- γ -L-グルタミル]-[O¹-メチル- γ -L-グルタミル]-[O¹-メチル- γ -L-グルタミル]- γ -グルタミン酸メチルの製造

参考例6と同様にして、参考例5の化合物 (1.018g) から、表題化合物 (891mg) が得られた。薄層クロマトグラフィー (E. Merck 社製、Silica Gel 60 F₂₅₄、展開溶媒; クロロホルム: メタノール = 10:1): R_f = 0.08

本品は、これ以上精製することなく次の参考例9において使用した。

【0060】参考例8

[N-(tert-ブトキシカルボニル)-O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

参考例6の化合物(429mg)と参考例3の化合物(514mg)とを乾燥ジメチルホルムアミド(7ml)に溶解し、0℃に冷却後、シアンりん酸ジエチル(141mg)の乾燥ジメチルホルムアミド溶液(7ml)を加えて0℃で15分間攪拌した。ついで、トリエチルアミン(337ml)の乾燥ジメチルホルムアミド溶液(7ml)を滴下し、0℃で1時間攪拌後、室温で20時間攪拌した。反応液をベンゼン/酢酸エチル(1/2; 600ml)で希釈し、5%塩酸、水、飽和食塩水、飽和重曹水、水、飽和食塩水で順次洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。減圧下に溶媒を留去し、得られた残渣をクロロホルム/石油エーテルより再結晶すると表題化合物(584g)が得られた。

施光度: $[\alpha]_D^{21} - 36.6^\circ$ (c=1.0, MeOH)
¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.46(9H, s), 1.60-2.60(20H, m), 3.67(3H, s), 3.69(6H, s), 3.70(3H, s), 3.75(3H, s), 4.28-4.76(5H, m), 5.11(2H, s), 5.20-5.30(1H, m), 6.20-6.30(1H, m), 7.05-7.15(1H, m), 7.34(5H, s), 7.30-7.40(1H, m), 7.56-7.63(1H, m)

IR (KBr): 3300, 1740, 1680, 1645, 1540cm⁻¹

【0061】参考例9

[N-(tert-ブトキシカルボニル)-O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

参考例8と同様にして、参考例7の化合物(885mg)と参考例3の化合物(776mg)とから表題化合物(878mg)が得られた。

施光度: $[\alpha]_D^{21} - 39.7^\circ$ (c=1.0, MeOH)
¹H-NMR (CDCl₃) δ: 1.46(9H, s), 1.77-2.70(24H, m), 3.64(3H, s), 3.67(3H, s), 3.68(3H, s), 3.70(3H, s), 3.72(3H, s), 3.76(3H, s), 4.37-4.80(6H, m), 5.11(2H, s), 5.22(1H, d, J=9.4Hz), 6.22(1H, d, J=9.4Hz), 7.17(1H, d, J=9.6Hz), 7.35(5H, s), 7.43(1H, d, J=8.6Hz), 7.55(1H, d, J=8.4Hz), 7.69(1H, d, J=7.6Hz)

IR (KBr): 3200, 1740, 1650, 1540cm⁻¹

【0062】参考例10

[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルトリフルオロ酢酸塩の製造

参考例4の化合物(230mg)のジクロロメタン(10ml)溶液にトリフルオロ酢酸(0.6ml)を添加し、室

温で3時間攪拌後、減圧下に溶媒を留去すると表題化合物(298mg)が得られた。本品は、これ以上精製することなく実施例における化合物の製造に用いた。

【0063】参考例11

[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルトリフルオロ酢酸塩の製造

参考例10と同様にして、参考例5の化合物(302mg)から、表題化合物(302mg)が得られた。本品は、これ以上精製することなく実施例における化合物の製造に用いた。

【0064】参考例12

[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルトリフルオロ酢酸塩の製造

参考例10と同様にして、参考例8の化合物(140mg)から、表題化合物(140mg、100%)が得られた。本品は、これ以上精製することなく実施例における化合物の製造に用いた。

【0065】参考例13

[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-[O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルトリフルオロ酢酸塩の製造
参考例10と同様にして、参考例9の化合物(496mg)から、表題化合物(526mg、100%)が得られた。本品は、これ以上精製することなく実施例における化合物の製造に用いた。

【0066】実施例1

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]-O¹-メチル-γ-L-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]安息香酸(225mg)と参考例3の化合物(343mg)とを乾燥ジメチルホルムアミド(5ml)に溶解し、0℃に冷却後、シアンりん酸ジエチル(130mg)の乾燥ジメチルホルムアミド溶液(5ml)を加えて0℃で15分間攪拌した。ついで、トリエチルアミン(161mg)の乾燥ジメチルホルムアミド溶液(5ml)を滴下し、0℃で1時間攪拌後、さらに室温で20時間攪拌した。減圧下に溶媒を留去し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー[担体: 20g、展開溶媒: クロロホルム: 10%含アンモニア-エタノール=9:1]で精製すると表題化合物(292g)が得られた。

IR (KBr) : 3350, 1730, 1600 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.90–2.39(14H, m), 3.67(3H, s), 3.76(3H, s), 4.59(2H, m), 4.52–4.80(2H, m), 4.94(2H, m), 5.11(2H, s), 6.47(1H, m), 6.98(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.20–7.36(7H, m), 7.53(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.75(2H, d, $J=8.2\text{Hz}$), 8.29(1H, m)

【0067】実施例2

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

実施例1と同様にして、4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]安息香酸(120mg)と参考例10の化合物(297mg)とから表題化合物(159mg)が得られた。

IR (KBr) : 3360, 1740, 1650, 1600 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.50–1.71(4H, m), 1.82–2.00(4H, m), 2.02–2.25(2H, m), 2.30–2.43(6H, m), 2.50–2.63(2H, m), 3.61(6H, s), 3.69(3H, s), 4.50(2H, m), 4.43–4.76(3H, m), 5.02(2H, s), 5.17(2H, m), 6.41(1H, s), 7.11–7.40(10H, m), 7.70(2H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 8.58(1H, m)

【0068】実施例3

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

実施例1と同様にして、4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]安息香酸(84mg)と参考例11の化合物(244mg)とから表題化合物(207mg)が得られた。

IR (KBr) : 3370, 1740, 1650, 1600 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.60–3.00(22H, m), 3.63(3H, m), 3.70(6H, m), 3.74(3H, s), 4.42(2H, m), 4.52–4.87(4H, m), 5.12(2H, s), 5.76(2H, s), 6.52(1H, s), 7.20–7.37(9H, m), 7.55(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.80(2H, d, $J=8.2\text{Hz}$), 7.85(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 9.35(1H, m)

【0069】実施例4

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造
実施例1と同様にして、4-[3-(2,4-ジアミノ

-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]安息香酸(162mg)と参考例12の化合物(575mg)とから表題化合物(360mg)が得られた。

IR (KBr) : 3400, 1740, 1650, 1610 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.58–2.97(26H, m), 3.64(3H, s), 3.67(3H, s), 3.69(3H, s), 3.71(3H, s), 3.78(3H, s), 4.24(2H, m), 4.51–4.90(5H, m), 5.10(2H, m), 5.90–6.14(2H, m), 6.55(1H, m), 7.17(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.22–7.42(8H, m), 7.61(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.64(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.76(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.82(2H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 9.53(1H, m)

【0070】実施例5

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]-[O^1 -メチル- γ -L-グルタミル]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチルの製造

実施例1と同様にして、4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]安息香酸(121mg)と参考例13の化合物(503mg)とから表題化合物(271mg)が得られた。

IR (KBr) : 3370, 1740, 1660, 1600 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ : 1.60–2.10(6H, m), 2.24–2.90(24H, m), 3.62(3H, m), 3.67(3H, m), 3.68(3H, s), 3.69(3H, s), 3.73(3H, m), 3.79(3H, m), 4.25(2H, m), 4.55–4.76(6H, m), 5.11(2H, s), 5.85(2H, m), 6.54(1H, m), 7.13(1H, d, $J=8.0\text{Hz}$), 7.20–7.38(8H, m), 7.50–7.70(4H, m), 7.81(2H, d, $J=8.2\text{Hz}$), 9.32(1H, m)

【0071】実施例6

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸の製造

実施例1の化合物(281mg)を水(12ml)とテトラヒドロフラン(8ml)の混合溶媒に溶解し、1規定水酸化ナトリウム(1.84ml)を加えた後、室温で4時間攪拌した。減圧下にテトラヒドロフランを留去し、少量の不純物をミリポアフィルターで濾過後、濾液を1規定塩酸(1.84ml)で中和した。数分間静置後、水をピペットで除去し、残渣にエーテル/メタノールを加えてスパーテルで刺激すると白色の粉末が形成された。これを濾取し、乾燥すると表題化合物(157mg)が得られた。

IR (KBr) : 3340, 3200, 2930, 1730, 1640 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ : 1.64–2.12(6H, m), 2.26–2.32(4H, m), 2.58–2.71(4H, m), 4.06–4.17(1H,

m), 4.22-4.40(1H, m), 5.56(2H, m), 6.16(2H, m), 6.45(1H, s), 7.30(2H, d, J=8.2Hz), 7.80(2H, d, J=8.2Hz), 8.12(1H, d, J=8.0Hz), 8.58(1H, d, J=8.0Hz), 10.52(1H, m)

【0072】実施例7

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]- γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸の製造

実施例6と同様にして、実施例2の化合物(296mg)から表題化合物(187mg)が得られた。

IR (KBr) : 3340, 3200, 2930, 1720, 1640 cm^{-1}
 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.68-2.00(6H, m), 2.07-2.32(8H, m), 2.62-2.77(4H, m), 4.10-4.21(2H, m), 4.23-4.42(1H, m), 5.60-5.73(2H, m), 6.31(2H, m), 6.47(1H, s), 7.30(2H, d, J=8.2Hz), 7.81(2H, d, J=8.2Hz), 8.05(1H, d, J=8.0Hz), 8.13(1H, d, J=8.0Hz), 8.59(1H, d, J=8.0Hz), 10.57(1H, m)

【0073】実施例8

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]- γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸の製造

実施例6と同様にして、実施例3の化合物(199mg)から表題化合物(137mg)が得られた。

IR (KBr) : 3340, 1730, 1650 cm^{-1}
 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.65-1.73(18H, m), 2.60-2.78(4H, m), 4.13-4.20(3H, m), 4.25-4.45(1H, m), 5.90-6.10(2H, m), 6.54(1H, m), 6.74(2H, m), 7.30(2H, d, J=8.4Hz), 7.82(2H, d, J=8.4Hz), 8.05(1H, d, J=8.0Hz), 8.10(1H, d, J=8.0Hz), 8.17(1H, d, J=8.0Hz), 8.60(1H, d, J=8.0Hz), 10.78(1H, m)

【0074】実施例9

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]- γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸の製造

実施例6と同様にして、実施例4の化合物(206mg)から表題化合物(127mg)が得られた。

IR (KBr) : 3340, 1730, 1650 cm^{-1}
 $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.55-2.34(22H, m), 2.60-2.80(4H, m), 4.10-4.21(4H, m), 4.25-4.43(1H, m), 5.90-6.10(2H, m), 6.54(1H, m), 6.78(2H, m), 7.30(2H, d, J=8.4Hz), 7.84(2H, d, J=8.4Hz), 8.03-8.26(4H, m), 8.61(1H, d, J=8.0Hz), 10.82(1H, m)

【0075】実施例10

[N-[4-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]- γ -L-グルタミル

- γ -L-グルタミル- γ -L-グルタミル- γ -L-グルタミル-L-グルタミン酸の製造

実施例6と同様にして、実施例5の化合物(126mg)から表題化合物(60mg)が得られた。

IR (KBr) : 3340, 1730, 1650 cm^{-1}

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.60-2.40(26H, m), 2.60-2.75(4H, m), 4.07-4.23(5H, m), 4.30-4.40(1H, m), 5.90-6.15(2H, m), 6.54(1H, s), 6.78(2H, m), 7.30(2H, d, J=8.2Hz), 7.82(2H, d, J=8.2Hz), 8.00-8.16(5H, m), 8.60(1H, d, J=8.0Hz), 10.82(1H, m)

【0076】実施例11

[N-[4-[2-(2,4-ジアミノ-6,7-ジヒドロ-5H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチルチオ]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸の製造

実施例1と同様にして、4-[2-(2,4-ジアミノ-6,7-ジヒドロ-5H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチルチオ]安息香酸(331mg)と参考例3の化合物(517mg)とから、[N-[4-[2-(2,4-ジアミノ-6,7-ジヒドロ-5H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチルチオ]ベンゾイル]-O¹-メチル- γ -L-グルタミル]- γ -ベンジル-L-グルタミン酸メチルを合成した。このもの全量を、実施例6と同様の加水分解反応に付すと、表題化合物(294mg)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (Me₂SO- d_6) δ : 1.62-1.80(2H, m), 1.82-2.20(6H, m), 2.21-2.37(2H, m), 2.90-3.03(2H, m), 3.22-3.37(2H, m), 3.45-3.62(1H, m), 4.03-4.18(1H, m), 4.23-4.37(1H, m), 6.23(1H, bs), 6.31(1H, bs), 6.46(1H, bs), 6.55(1H, bs), 6.90(1H, s), 7.31(1H, d, J=9Hz), 7.33(1H, d, J=9Hz), 7.77(1H, d, J=9Hz), 7.79(1H, d, J=9Hz), 8.10(0.5H, d, J=8Hz), 8.17(0.5H, d, J=8Hz), 8.63(0.5H, d, J=8Hz), 8.69(0.5H, d, J=8Hz), 10.60(1H, s)

【0077】実施例12

[N-[4-[3-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]- γ -L-グルタミル]-L-グルタミン酸の製造

実施例1と同様にして、4-[3-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]安息香酸(313mg)と参考例3の化合物(517mg)とから、[N-[4-[3-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]ベンゾイル]-O¹-メチル- γ -L-ベンジル-L-グルタミン酸メチルを合成した。このもの全量を、実施例6と同様の加水分解反応に付すと、表題化合物(282mg)が得られた。

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) δ : 1.78-2.17(6H, m),

2.23-2.41(4H, m), 2.53-2.80(4H, m), 4.01-4.12(1H, m), 4.30-4.47(1H, m), 5.92(2H, s), 6.36(1H, s), 7.28(2H, d, J=8Hz), 7.79(2H, d, J=8Hz), 8.12(1H, d, J=7.8Hz), 8.55(1H, d, J=7.8Hz), 10.10(1H, s)

【0078】実施例13

[N-[4-[N-[2-(2,4-ジアミノ-6,7-ジヒドロ-5H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]ベンゾイル]-γ-グルタミル]-L-グルタミン酸の製造

実施例1と同様にして、4-[N-[2-(2,4-ジアミノ-6,7-ジヒドロ-5H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]安息香酸(329mg)と参考例3の化合物(517mg)とから、[N-[4-[N-[2-(2,4-ジアミノ-6,7-ジヒドロ-5H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]ベンゾイル]-O¹-メチル-γ-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルを合成した。このものを、実施例6と同様の加水分解反応に付すと、表題化合物(276mg)が得られた。

¹H-NMR (DMSO-d₆+D₂O) δ: 1.41-1.65(1H, m), 1.75-2.11(5H, m), 2.28(4H, t, J=7Hz), 2.93(3H, s), 3.13-3.45(4H, m), 3.52-3.66(1H, m), 3.99-4.12(1H, m), 4.20-4.34(1H, m), 6.72(2H, dd, J=9Hz, 2Hz), 7.71(2H, d, J=9Hz)

【0079】実施例14

[N-[5-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]-2-テノイル]-γ-グルタミル]-L-グルタミン酸の製造

実施例1と同様にして、5-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]-2-チオフェンカルボン酸トリフルオロ酢酸塩(432mg)と参考例3の化合物(517mg)とから、[N-[5-[3-(2,4-ジアミノ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)プロピル]-2-テノイル]-O¹-メチル-γ-グルタミル]-γ-ベンジル-L-グルタミン酸メチルを合成した。このものを、実施例6と同様の加水分解反応に付すと、表題化合物(305mg)が得られた。

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 1.76-2.18(6H, m), 2.27-2.40(4H, m), 2.70(2H, t, J=7.6Hz), 2.85(2H, t, J=7.6Hz), 4.02-4.14(1H, m), 4.24-4.37(1H, m), 5.60(2H, s), 6.21(2H, s), 6.47(1H, s), 6.67(1H, d, J=3.6Hz), 7.68(1H, d, J=3.6Hz), 8.10(1H, d, J=7.6Hz), 8.51(1H, d, J=7.6Hz), 10.52(1H, s)

【0080】実施例15

[N-[4-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]ベンゾイル]-γ-グルタミル]-L-グルタ

ミン酸

実施例1および6と同様にして掲題の化合物を合成した。

¹H-NMR (Me₂SO-d₆) δ: 1.76-2.15(4H, m), 2.20-2.33(4H, m), 2.78-3.03(4H, m), 4.12-4.22(1H, m), 4.28-4.41(1H, m), 6.01(2H, s), 6.32(1H, d, J=2.0Hz), 7.28(2H, d, J=8.0Hz), 7.78(2H, d, J=8.0Hz), 8.06(1H, d, J=8.0Hz), 8.52(1H, d, J=8.0Hz), 10.16(1H, s), 10.60(1H, s)

【0081】実施例16

[N-[4-[N-2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチルアミノ]ベンゾイル]-γ-グルタミル]グルタミン酸

実施例1および6と同様にして掲題の化合物を合成した。

¹H-NMR (Me₂SO-d₆+D₂O) δ: 1.79-2.14(4H, m), 2.21-2.35(4H, m), 2.85(2H, t, J=7.0Hz), 3.31(3H, t, J=7.0Hz), 4.10-4.22(1H, m), 4.31-4.43(1H, m), 6.50(1H, s), 6.63(2H, d, J=8.8Hz), 7.65(2H, d, J=8.8Hz)

【0082】実施例17

[N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]ベンゾイル]-γ-グルタミル]グルタミン酸

実施例1および6と同様にして掲題の化合物を合成した。

¹H-NMR (Me₂SO-d₆+D₂O) δ: 1.77-2.15(4H, m), 2.20-2.35(4H, m), 2.77(2H, t, J=7.4Hz), 2.98(3H, s), 3.66(2H, t, J=7.4Hz), 4.09-4.20(1H, m), 4.31-4.45(1H, m), 6.43(1H, d, J=1.8Hz), 6.88(2H, d, J=8.8Hz), 7.76(2H, d, J=8.8Hz)

【0083】実施例18

[N-[4-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-プロパルギルアミノ]ベンゾイル]-γ-グルタミル]グルタミン酸

実施例1および6と同様にして掲題の化合物を合成した。

¹H-NMR (Me₂SO-d₆+D₂O) δ: 1.78-2.15(4H, m), 2.20-2.36(4H, m), 2.86(2H, m), 3.12(1H, s), 3.66(2H, m), 4.10-4.21(1H, m), 4.19(2H, s), 4.32-4.46(1H, m), 6.47(1H, d, J=2.0Hz), 6.99(2H, d, J=9.0Hz), 7.77(2H, d, J=9.0Hz)

【0084】実施例19

[N-[5-[N-[2-(2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ[2,3-d]ピリミジン-5-イル)エチル]-N-メチルアミノ]-2-テノイル]-γ-グルタミル]グルタミン酸

実施例 1 および 6 と同様にして掲題の化合物を合成した。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 1.80–2.16 (4H, m), 2.18–2.33 (4H, m), 2.79 (2H, m), 3.05 (3H, s), 3.64 (2H, m), 4.07–4.19 (1H, m), 4.33–4.42 (1H, m), 5.94 (1H, d, $J=4.4\text{Hz}$), 6.49 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 7.56 (1H, d, $J=4.4\text{Hz}$)

【0085】実施例 20

[N- [5- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] -2-テノイル] - γ -L-グルタミル] グルタミン酸

実施例 1 および 6 と同様にして掲題の化合物を合成した。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 1.79–2.14 (4H, m), 2.19–2.34 (4H, m), 2.85 (2H, m), 3.10 (1H, s), 3.65 (2H, m), 4.11–4.23 (1H, m), 4.18 (2H, s), 4.34–4.45 (1H, m), 6.05 (1H, d, $J=4.4\text{Hz}$), 6.50 (1H, d, $J=2.0\text{Hz}$), 7.58 (2H, d, $J=4.4\text{Hz}$)

【0086】実施例 21

[N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-メチルアミノ] -2-フルオロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] -L-グルタミン酸
実施例 1 および 6 と同様にして掲題の化合物を合成した。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 1.75–2.17 (4H, m), 2.22–2.36 (4H, m), 2.76 (2H, m), 2.99 (3H, s), 3.64 (2H, m), 4.05–4.18 (1H, m), 4.29–4.43 (1H, m), 6.40 (1H, dd, $J=2.2, 14.8\text{Hz}$), 6.48 (1H, s), 6.50 (1H, dd, $J=2.2, 8.6\text{Hz}$), 7.75 (1H, t, $J=8.6\text{Hz}$)

【0087】実施例 22

[N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] -2-フルオロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] -L-グルタミン酸

実施例 1 および 6 と同様にして掲題の化合物を合成した。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 1.78–2.17 (4H, m), 2.18–2.37 (4H, m), 2.87 (2H, m), 3.09 (1H, s), 3.66 (2H, m), 4.04–4.19 (1H, m), 4.20 (2H, s), 4.33–4.43 (1H, m), 6.42 (1H, dd, $J=2.2, 14.8\text{Hz}$), 6.47 (1H, s), 6.51 (1H, dd, $J=2.2, 8.6\text{Hz}$), 7.74 (1H, t, $J=8.6\text{Hz}$)

【0088】実施例 23

[N- [4- [N- [2- (2-アミノ-4-ヒドロキシ-7H-ピロロ [2, 3-d] ピリミジン-5-イル) エチル] -N-プロパルギルアミノ] -2-クロロベンゾイル] - γ -L-グルタミル] -L-グルタミン酸

実施例 1 および 6 と同様にして掲題の化合物を合成した。

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{Me}_2\text{SO}-d_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ : 1.79–2.20 (4H, m), 2.23–2.38 (4H, m), 2.84 (2H, m), 3.15 (1H, s), 3.65 (2H, m), 4.19 (2H, s), 4.06–4.20 (1H, m), 4.27–4.43 (1H, m), 6.46 (1H, s), 7.00 (1H, d, $J=8.8\text{Hz}$), 7.01 (1H, s), 7.33 (1H, d, $J=8.8\text{Hz}$)

【0089】

【発明の効果】本発明によれば、細胞内での貯蔵効率のよい、水溶性の抗腫瘍剤として安全かつ有用な、新規化合物が提供される。